

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y SU PATOLOGÍA	4
3.1.1. Epidemiología.....	5
3.1.2. Patología de la EA.....	5
3.2. PROTEINA PRECURSORA AMILOIDE (APP) Y PEPTIDO B- AMILOIDE .	11
3.3. CALPAÍNA IMPORTANTE EN EL PROCESAMIENTO DEL PEPTIDO A β 40.	15
3.4. PLAQUETAS Y ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	21
3.4.1. Rol fisiopatológico de las plaquetas en EA.....	21
3.4.2. Origen del péptido A β plaquetario y posible función.....	25
3.4.3. Plaquetas, inflamación y EA.....	27
3.5. ADENOSINA, IMPORTANTE METABOLITO REGULADOR EN PLAQUETAS.....	29
4. OBJETIVOS	34
4.1. OBJETIVO GENERAL	34
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	34
5. MATERIALES Y MÉTODOS	35
5.1. Toma de muestra.....	35
5.2. Obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma pobre en plaquetas (PPP).	35
5.3. Agregación plaquetaria.	36
5.4. Plaquetas lavadas.	37
5.5. Medición de la activación plaquetaria.....	38
5.6. Inhibición de la Secreción del péptido A β 40.	39
5.7. Actividad de la calpaína.....	40
5.8. Cuantificación de proteínas.....	40

5.9.	Análisis estadístico.....	41
6.	RESULTADOS	42
6.1.	Agregación plaquetaria.	42
6.1.1.	Efecto inhibitorio de ZM241385 sobre la acción de la adenosina	45
6.1.2.	Efecto inhibitorio de ZM241385 sobre la acción de noca.....	47
6.2.	Activación plaquetaria.	50
6.3.	Actividad de la calpaína.	56
6.4.	Estandarización del Dot blot.	58
6.5.	Secreción del péptido A β 40 plaquetario.	63
7.	DISCUSIÓN	66
8.	CONCLUSIÓN.....	73
9.	REFERENCIAS.....	75
10.	ANEXOS.....	83

INDICE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS		PAGINAS
Figura 1.	Factores implicados en la generación de las placas amiloides	6
Figura 2.	Neuronas de cerebro normal y de cerebro de enfermo de Alzheimer	9
Figura 3.	Contribución de las plaquetas sanguíneas a la patología vascular de la EA	11
Figura 4.	Cortes proteolíticos en APP	13
Figura 5.	Actividad de la calpaína desempeña un papel importante en enfermedad de Alzheimer	17
Figura 6.	Un esquema propuesto de la desregulación de la proteína de unión al elemento de respuesta a la calpaína-cAMP dependiente	19
Figura 7.	Contribución de las plaquetas en la patología de EA	24
Figura 8.	Estructura química de adenosina	30
Figura 9.	Receptores de adenosina acoplados a proteína G	32
Figura 10.	Control de la agregación plaquetaria	43

Figura 11.	Control de la agregación plaquetaria	44
Figura 12.	Efecto de la adenosina y su inhibidor ZM241385 en agregación plaquetaria	46
Figura 13.	Agregación plaquetaria mediada por adenosina e inhibidor de adenosina ZM241385	47
Figura 14.	Efecto del inhibidor de adenosina y neca en agregación plaquetaria	48
Figura 15.	Agregación plaquetaria mediada por neca e inhibidor de adenosina ZM241385	49
Figura 16.	Activación plaquetaria mediada por TRAP-6	50
Figura 17.	Activación plaquetaria mediada por trap-6 (10 μ M)	51
Figura 18.	Inhibición de ZM241385 sobre el efecto de la adenosina en la activación plaquetaria	52
Figura 19.	Inhibición de ZM241385 sobre el efecto de la adenosina en la activación plaquetaria (estadística)	53
Figura 20.	Inhibición de ZM241385 sobre el efecto del neca en la activación plaquetaria	54
Figura 21.	Inhibición de ZM241385 sobre el efecto del neca en la activación plaquetaria (estadística)	55
Figura 22.	Actividad de la calpaína inducida por trap-6 (10 μ M) ante adenosina (100 μ M) y neca (100 μ M)	58

Figura 23.	Fluorescencia producida por lavados con buffer CAF y buffer TAF	60
Figura 24.	Fluorescencia producida por lavados con TAF una vez en condición basal y TRAP-6 (10 μ M)	61
Figura 25.	Fluorescencia producida por lavados con taf dos veces en condición basal y trap-6 (10 μ M)	62
Figura 26.	Secreción del peptido a β 40 plaquetario estimulado por trap-6 (10 μ M) ante el efecto de adenosina (100 μ M) y neca (100 μ M)	65

TABLAS

Tabla 1.	Moléculas principales asociadas a la activación de plaquetas	23
Tabla 2.	Principales mediadores biológicos de plaquetas que participan en la EA	28
Tabla 3.	Buffers utilizados en el lavado de plaquetas con sus componentes.	38